

# MASC-карцинома околоушной слюнной железы: современные возможности диагностики и таргетной терапии при транслокациях (слияниях) в гене *NTRK*

А. В. Игнатова<sup>1,2</sup>, А. М. Мудунов<sup>1,3</sup>, С. О. Подвизников<sup>1</sup>, Ю. В. Алымов<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; Россия, 125993 Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»; Россия, 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6;

<sup>3</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

**Контакты:** Анастасия Валерьевна Игнатова [annasurge@gmail.com](mailto:annasurge@gmail.com)

MASC-карцинома слюнной железы, аналог секреторной карциномы молочной железы (*mammary analogue secretory carcinoma*) – редкая злокачественная опухоль слюнной железы, которая по гистологическому строению похожа на секреторную карциному молочной железы. В 2017 г. Всемирная организация здравоохранения выделила эти опухоли в отдельный подтип в гистологической классификации опухолей слюнных желез.

В данной работе обобщены данные научной литературы о MASC-карциноме слюнных желез, в частности о ее гистологических, молекулярно-генетических особенностях, возможностях ее диагностики и лекарственной терапии. На клиническом примере продемонстрирована успешность применения энтректиниб (ингибитора тирозинкиназ при слияниях в генах *NTRK1*, *NTRK2*, *NTRK3*) у пациента со слиянием *ETV6-NTRK3*, выявленным при секвенировании нового поколения (*next-generation sequencing*). Секвенирование нового поколения позволяет определить молекулярно-генетические особенности редких опухолей, что открывает возможности для эффективной индивидуализированной терапии. Верификация MASC-карцином и определение их молекулярно-генетических характеристик имеет большое значение для прогноза, так как выявление характерного для данного подтипа слияния генов *ETV6-NTRK3* и, соответственно, назначение таргетной терапии ингибиторами тирозинкиназ (энтректинибом, ларотрентинибом) улучшает прогноз. В приведенном клиническом случае, несмотря на высокую клиническую эффективность таргетной терапии и быстрый ответ опухоли, наблюдалось постепенное развитие резистентности вследствие появления мутации *G623R* в гене *NTRK3*, которая снизила чувствительность опухоли к препарату. Таким образом, актуальнее дальнейшее изучение эффективности таргетной терапии, в том числе 2-го поколения, у пациентов с редкими опухолями и слияниями *NTRK*.

**Ключевые слова:** MASC-карцинома, аналог секреторной карциномы молочной железы, *ETV6-NTRK3*, секвенирование нового поколения, флуоресцентная гибридизация *in situ*, иммуногистохимия, полимеразная цепная реакция, ингибиторы тирозинкиназ, энтректиниб, ларотрентиниб

**Для цитирования:** Игнатова А. В., Мудунов А. М., Подвизников С. О., Алымов Ю. В. MASC-карцинома околоушной слюнной железы: современные возможности диагностики и таргетной терапии при транслокациях (слияниях) в гене *NTRK*. Опухоли головы и шеи 2020;10(2):69–78.

DOI: 10.17650/2222-1468-2020-10-2-69-78



## Mammary analogue secretory carcinoma of the salivary gland with *NTRK* fusions: new approaches for diagnostics and targeted therapy (review)

A. V. Ignatova<sup>1,2</sup>, A. M. Mudunov<sup>1,3</sup>, S. O. Podvyaznikov<sup>1</sup>, Yu. V. Alymov<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Ministry of Health of Russia; Bld. 1, 2/1 Barrikadnaya St., Moscow 125993, Russia;

<sup>2</sup>RUDN University; 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow 117198, Russia;

<sup>3</sup>N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

Mammary analogue secretory carcinoma (MASC) of the salivary gland is a rare salivary cancer, histologically resembling to secretory carcinoma of the breast. In 2017 World Health Organization reported MASC is a new salivary cancer subtype.

The aim of this article is to collect and analyze data about MASC, particularly clinical, histological and molecular profile, to evaluate targeted therapy effects. We discuss a case report of dramatic and durable response with entrectinib and the development of acquired resistance in an *NTRK3*-fusion positive salivary cancer, detected by next-generation sequencing.

*Next-generation sequencing as a comprehensive molecular profiling, that helps to investigate molecular profile of rare tumors and gives an opportunity to use an effective therapeutic options. Identifying ETV6-NTRK3 positive MASC provides a better prognosis for metastatic disease by using a novel effective targeted therapy with tyrosine kinase inhibitors (entrectinib, larotrectinib). Despite a durable and dramatic response, we showed an interesting case of the development of acquired resistance to tyrosine kinase inhibitors mediated by the appearance of a novel NTRK3 G623R mutation. Finally, we believe in great perspectives of comprehensive molecular profiling and targeted therapy for rare malignancies with NTRK gene fusions, including second-generation tyrosine kinase inhibitors.*

**Key words:** mammary analogue secretory carcinoma, ETV6-NTRK3, next-generation sequencing, fluorescent in situ hybridization, immunohistochemistry, polymerase chain reaction, tyrosine kinase inhibitors, entrectinib, larotrectinib

**For citation:** Ignatova A.V., Mudunov A.M., Podvyaznikov S.O., Alymov Yu.V. Mammary analogue secretory carcinoma of the salivary gland with NTRK fusions: new approaches for diagnostics and targeted therapy (review). *Opukholi golovy i shei = Head and Neck Tumors* 2020;10(2):69–78. (In Russ.).

## Введение

Аналог секреторной карциномы молочной железы (mammary analogue secretory carcinoma), MASC-карцинома слюнной железы — злокачественная опухоль, которая по гистологическому строению похожа на секреторную карциному молочной железы и локализуется преимущественно в околоушных слюнных железах.

Новый вид злокачественных опухолей слюнных желез, по гистологическому строению схожий с секреторной карциномой молочной железы и имеющий транслокацию гена *ETV6-NTRK3* t(12:15)(p13;q25), был впервые описан в 2010 г. [1, 2]. До 2010 г. эти опухоли по гистологическому строению относили к другим видам опухолей слюнных желез низкой степени злокачественности, чаще всего к ацинозноклеточному раку. Но уже в 2017 г. Всемирная организация здравоохранения выделила MASC-карциномы в отдельный подтип в классификации опухолей слюнных желез (Classification of Salivary Gland Tumors). MASC-карциномы характеризуются медленным инфильтративным ростом; рецидивы и регионарные метастазы развиваются менее чем в 20 % случаев [3].

MASC-карциномы относятся к высокодифференцированным опухолям, однако возможна их трансформация в опухоли высокой злокачественности (прогрессирование опухоли и дедифференцировка ее клеток с образованием низкодифференцированного компонента) [4]. Для MASC-карциномы характерны различные гистологические типы роста: солидный, кистозный, папиллярный и тубулярный. Клетки опухоли отличаются умеренным полиморфизмом ядер, хорошо различимыми ядрышками и дисперсным хроматином, эозинофильной вакуолизированной цитоплазмой. При иммуногистохимическом исследовании выявляется продукция S-100, маммаглобина, виментина, GATA3 и отсутствие продукции p63, цитокератинов 1, 5 и 6, DOG1, SMA, кальпонины [5].

Молекулярно-генетические особенности MASC-карциномы чаще всего заключаются в слиянии (транслокации) генов *ETV6-NTRK3*, но в некоторых случаях возможно слияние *ETV6* и других генов, например *ETV6-ABL1*, *ETV6-LPXN* [6, 7].

Образование гибридного гена путем слияния генов *ETV6* и *NTRK3* является главным пусковым механизмом активации в клетках опухоли генов нейротрофной рецепторной киназы (neurotrophic tyrosine receptor kinase, *NTRK*) 1, 2 и 3-го типов — *NTRK1*, *NTRK2* и *NTRK3* [8]. Эти гены кодируют семейство белков тропомиозин-рецепторных киназ (tropomyosin receptor kinase, Trk) — TrkA, TrkB и TrkC, которые участвуют в развитии центральной нервной системы. Помимо опухолей слюнных желез, подобные транслокации (слияния) выявляются в клетках злокачественных новообразований легких, ободочной кишки, щитовидной железы, а также сарком, шпикоидных меланом, первичных опухолей головного мозга и пр. [9]. Основные виды слияний *NTRK* при различных опухолях представлены в таблице [10].

Слияние интактного тирозинкиназного домена генов *NTRK1*, *NTRK2* и *NTRK3* с различными генами-партнерами при транскрипции приводит к патологической активации множества биохимических внутриклеточных сигнальных путей и последующему злокачественному росту клеток [10, 11].

## Методы выявления слияний *NTRK*

**Иммуногистохимическое исследование** широко используется для определения экспрессии Trk при различных опухолях (см. таблицу). Для исследования используют клон пан-Trk-антител, которые связываются с С-терминальным концом рецепторов TrkA, TrkB и TrkC и реагируют на любые варианты слияний (транслокаций) *NTRK*. Реакция считается положительной при окрашивании не менее 1 % опухолевых клеток (рис. 1) [12]. По данным исследования J.P. Solomon и соавт., чувствительность иммуногистохимического исследования для определения слияний *NTRK1* и *NTRK2* составляет 96 и 100 % соответственно, но для определения слияний *NTRK3* существенно ниже — всего 79 % [13]. Метод имеет различную специфичность в зависимости от типа опухоли: до 100 % при карциномах толстой кишки, легких, щитовидной железы, холангиокарциномах и всего 52 % при опухолях слюнных желез (с чувствительностью 89 %) [13]. Иммуногистохимическое исследование

Основные виды слияний (транслокаций) гена *NTRK* при различных опухолях (адаптировано из [10])

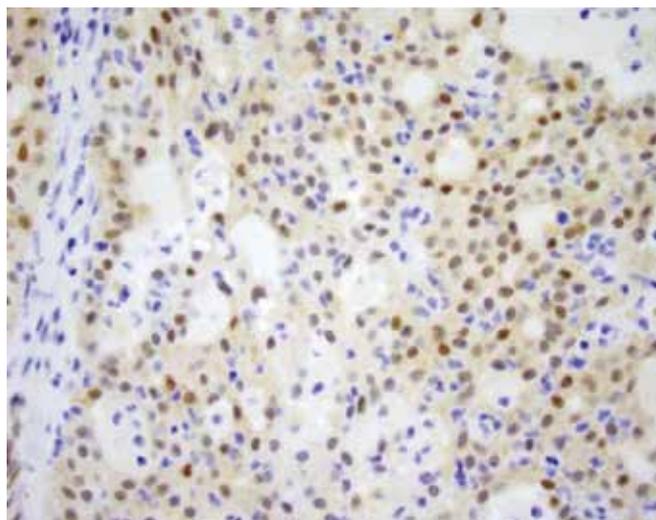
Main *NTRK* gene fusions (translocations) in patients with different tumors (adapted from [10])

Слияние (транслокация) генов Gene fusion (translocation)	Опухоль Tumor	Автор, год публикации Author, year of publication
<b><i>NTRK1</i></b>		
<i>LMNA-NTRK1</i>	Колоректальный рак Colorectal cancer	Sartore-Bianchi et al. (2016)
	Саркома мягких тканей Soft tissue sarcoma	Doebele et al. (2015)
	Инфантильная фибросаркома Infantile fibrosarcoma	Wong et al. (2015)
<i>TPM3-NTRK1</i>	Папиллярный рак щитовидной железы Papillary thyroid cancer	Bongarzone et al. (1989), Butti et al. (1995)
	Глиобластома Glioblastoma	Wu et al. (2014)
	Колоректальный рак Colorectal cancer	Lee et al. (2015), Créancier et al. (2015), Ardini et al. (2014)
<i>SQSTM1-NTRK1, NTRK1-SQSTM1</i>	Немелкоклеточный рак легкого Non-small-cell lung carcinoma	Farago et al. (2015), Siena et al. (2015)
<i>NFASC-NTRK1, BCAN-NTRK1</i>	Мультиформная глиобластома Glioblastoma multiforme	Frattini et al. (2013), Kim et al. (2014)
<i>PPL-NTRK1, TFG-NTRK1</i>	Рак щитовидной железы Thyroid cancer	Greco et al. (1995), Farago et al. (2015)
<i>RFWD2-NTRK1</i>	Крупноклеточная нейроэндокринная карцинома легких Large-cell neuroendocrine carcinoma of the lungs	Fernandez-Cuesta et al. (2014)
<i>MPRIP-NTRK1, CD74-NTRK1</i>	Аденокарцинома легких Lung adenocarcinoma	Vaishnavi et al. (2013)
<i>TP53-NTRK1, LMNA-NTRK1</i>	Шпицоидная меланома Spitzoid melanoma	Wiesner et al. (2014)
<b><i>NTRK2</i></b>		
<i>AFAP1-NTRK2</i>	Высокодифференцированная глиома Low-grade glioma	Stransky et al. (2014)
<i>AGBL4-NTRK2, VCL-NTRK2</i>	Глиобластома Glioblastoma	Wu et al. (2014)
<i>NACC2-NTRK2, QKI-NTRK2</i>	Пилоцитарная астроцитома Pilocytic astrocytoma	Jones et al. (2013)
<i>PAN3-NTRK2</i>	Плоскоклеточный рак головы и шеи Head and neck squamous cell carcinoma	Wu et al. (2014)
<i>TRIM24-NTRK2</i>	Аденокарцинома легких Lung adenocarcinoma	Wu et al. (2014)
<b><i>NTRK3</i></b>		
<i>ETV6-NTRK3</i>	MASC-карцинома Mammary analogue secretory carcinoma	Tognon et al. (2002), Ito et al. (2015), Del Castillo et al. (2015)
	Протоковая карцинома Ductal carcinoma	Makretsov et al. (2004), Arce et al. (2005), Lagree et al. (2011), Pinto et al. (2014)
	Фибросаркома Fibrosarcoma	Morerio et al. (2004), Punnett et al. (2000)
	Мезобластная нефрома Mesoblastic nephroma	Watanabe et al. (2002)
	Рак щитовидной железы радиационно-индуцированный Radiation-induced thyroid cancer	Leeman-Neill et al. (2014)
	Острый миелобластный лейкоз Acute myeloblastic leukemia	Kralik et al. (2011), Eguchi et al. (1999), Knezevich et al. (1998)
	Гастроинтестинальная стромальная опухоль Gastrointestinal stromal tumor	Brenca et al. (2015)
	MASC-карцинома слюнных желез Mammary analogue secretory carcinoma of the salivary gland	Urano et al. (2015), Skálová et al. (2015)
	Папиллярный рак щитовидной железы Papillary thyroid cancer	Leeman-Neill et al. (2014), Seungbok Lee et al. (2014)
	Колоректальный рак Colorectal cancer	Hechtman et al. (2015)
<i>BTBD1-NTRK3</i>	Глиобластома Glioblastoma	Wu et al. (2014)

с использованием пан-Trk-антител является доступным инструментом скрининга, однако требует обязательного подтверждения наличия транслокации (слияния) *NTRK* методами секвенирования нового поколения (next-generation sequencing, NGS), полимеразной цепной реакции или флуоресцентной гибридизации *in situ* (fluorescence *in situ* hybridisation, FISH), так как не дифференцирует синтез Trk дикого типа и химерного онкогенного белка Trk [14].

**Флуоресцентная гибридизация *in situ*** – метод молекулярно-цитогенетической диагностики, основанный на реакции гибридизации между созданным по специальной технологии ДНК-зондом с флуоресцентной меткой, который представляет собой нуклеотидную последовательность ограниченного размера, и комплементарным ему участком ядерной ДНК опухоли. Для выявления слияния *ETV6-NTRK3* у пациентов с MASC-карциномой используется ДНК-зонд с флуоресцентной меткой *ETV6*. Преимущество метода заключается в том, что FISH-реакция требует всего 1–2 неокрашенных микропрепаратов опухоли и занимает всего несколько дней. Метод предполагает анализ с использованием 1 вида метки и используется для выявления определенной мутации. Но при наличии внутрихромосомных мутаций, например делеций, комплементарность с ДНК-зондом пропадает и возможен ложноотрицательный результат [15].

**Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией** (reverse transcriptase polymerase chain reaction) – метод амплификации специфического фрагмента РНК, который в реакции обратной транскрипции с искомой РНК в опухоли образует комплементарную ДНК.



**Рис. 1.** Иммуногистохимическое окрашивание. MASC-карцинома слюнной железы со слиянием *ETV6-NTRK3* и низкой ядерно-цитоплазматической экспрессией пан-Trk (адаптировано из [13] с разрешения авторов)

**Fig. 1.** Immunohistochemical staining. Mammary analogue secretory carcinoma of the salivary gland with *ETV6-NTRK3* fusion and low nuclear-cytoplasmic expression of pan-Trk (adapted from [13] with permission of the authors)

Подобный анализ возможно применять для выявления определенных слияний, например *ETV6-NTRK3* [16].

**Секвенирование нового поколения** – один из наиболее информативных методов обнаружения различных видов генетических мутаций (в том числе делеций, амплификаций, слияний и пр.) в редких опухолях. Опухолевую ДНК или РНК для NGS выделяют из парафиновых блоков с фиксированной в формалине опухолью и далее секвенируют с последующей возможностью «прочитать» сразу несколько интересующих участков генома и выявить в них различные специфические молекулярно-генетические изменения и мутации. Этот метод крайне важен для определения мутаций в редких опухолях и подбора таргетной терапии.

Существуют различные диагностические панели, которые рассчитаны на прочтение различных областей ДНК, причем считывание последовательности нуклеотидов происходит преимущественно в экзонах. Если искомые фрагменты включают в себя длинные интронные области (к примеру, во фрагментах генов *ETV6* и *NTRK3*), которые не всегда могут быть охвачены зондами захвата при гибридизации, чувствительность основанного на ДНК NGS может снижаться. В настоящее время появились современные диагностические панели, такие как FoundationOne CDx, позволяющие одновременно выявлять все варианты генетических изменений в большом количестве генов благодаря считыванию данных не только экзонов, но и основных интронов [17].

### Современный взгляд на лечение опухолей с транслокацией (слиянием) *NTRK*

Лечение MASC-карцином соответствует общим алгоритмам лечения опухолей слюнных желез. При локализованных формах рекомендовано хирургическое лечение с последующей адъювантной лучевой терапией по показаниям. Особую проблему представляют местно-распространенные нерезектабельные и метастатические опухоли, так как на сегодняшний день нет достоверно эффективных схем и стандартов лекарственного лечения опухолей слюнных желез. Эффективность различных методов лечения MASC-карцином слюнных желез мало изучена, но с учетом характерной перестройки в гене *NTRK3* при местно-распространенных и метастатических опухолях можно ожидать хороший ответ на таргетную терапию нижеуказанными ингибиторами тирозинкиназ (ИТК).

Ларотректиниб (larotrectinib) – высокоселективный пероральный ИТК (TrkA, TrkB и TrkC), эффективность и безопасность которого доказана в исследованиях SCOUT (I–II фазы) и NAVIGATE (II фазы) у пациентов с подтвержденными слияниями *NTRK* в различных опухолях, в том числе и MASC-карциномах слюнных желез [18]. В данных исследованиях при наличии различных слияний *NTRK* вне зависимости от гистологического

типа опухоли в смешанной когорте пациентов (взрослых и детей) ответ на лечение получен более чем в 75 % случаев. Медиана продолжительности ответа на терапию составляет 35,2 мес, медиана выживаемости без прогрессирования — 28,2 мес, медиана общей выживаемости — 44,4 мес [19]. При исследовании безопасности и токсичности препарата у 260 пациентов установлено, что выраженность большинства побочных эффектов была легкой (I–II степени), они носили транзиторный характер. Наиболее частыми побочными эффектами были слабость, кашель, подъем уровня печеночных трансаминаз, констипация, тошнота и головокружение.

Энтректиниб (entrectinib) — пероральный низкомолекулярный ИТК (TrkA, TrkB, TrkC и ROS1), разработанный для лечения опухолей центральной нервной системы [20]. Эффективность и безопасность энтректиниба изучена в 2 завершённых исследованиях ALKA-372-001 и STARTRK-1 (I фазы) и 2 продолжающихся исследованиях STARTRK-2 (II фазы) и STARTRK-NG (I–II фазы, с участием пациентов-детей). Согласно результатам объединённого анализа результатов лечения 74 взрослых пациентов с солидными опухолями со слияниями *NTRK* частота получения объективного ответа на терапию составила 63,5 %, полный ответ (ремиссия) наблюдался у 6,8 % пациентов. Медиана продолжительности ответа на терапию составила 12,9 мес, медиана выживаемости без прогрессирования — 11,2 мес, медиана общей выживаемости — 23,9 мес [21]. На момент начала исследования 21,6 % пациентов имели метастазы в головном мозге, частота интракраниального объективного ответа составила 50 %, в том числе у 25 % пациентов получен полный интракраниальный ответ [21]. Энтректиниб является слабым субстратом для Р-гликопротеина, обратного транспортера молекул через гематоэнцефалический барьер, поэтому достигает более высокой концентрации в центральной нервной системе, что позволяет получать эффективный ответ на терапию при интракраниальных опухолях и церебральных метастазах [22]. В 3 исследованиях с участием 355 пациентов профиль безопасности и переносимости терапии был благоприятным и управляемым, большинство побочных эффектов были I–II степени. Наиболее частыми побочными эффектами были изменение вкусовых ощущений, слабость, запор, головокружение, периферические отеки [23].

В 2019 г. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration) провело процедуру ускоренного одобрения энтректиниба и ларотрентиниба ввиду высокой частоты общего ответа на терапию этими препаратами при различных видах опухолей (в т. ч. при MASC-карциноме слюнных желез) со слияниями *NTRK*. Данные препараты применяются для лечения неоперабельных, метастатических и прогрессирующих

процессов у детей старше 12 лет и взрослых с солидными опухолями и перестройками *NTRK*.

Несмотря на высокую эффективность и длительность ответа на терапию, у некоторых пациентов со временем возможно развитие резистентности к данным препаратам (с появлением соответствующих мутаций) и дальнейшее прогрессирование опухолевого процесса. При исследовании биоптатов у таких пациентов были выявлены от одной до нескольких мутаций в киназных доменах генов *NTRK*, что привело к образованию стереоизомеров препаратсвязывающих участков. Нарушение связывания молекулы лекарственного препарата с ее мишенью приводит к снижению эффективности лечения. Развитие лекарственной устойчивости описано и при применении других ИТК. Для преодоления резистентности в настоящее время проводятся клинические исследования I–II фазы ИТК 2-го поколения, таких как селитрентиниб (selitrectinib, Loxo-195), репотрентиниб (repotrectinib; TPX-0005 в исследовании TRIDENT-1), мерестиниб (merestinib, LY2801653) [24].

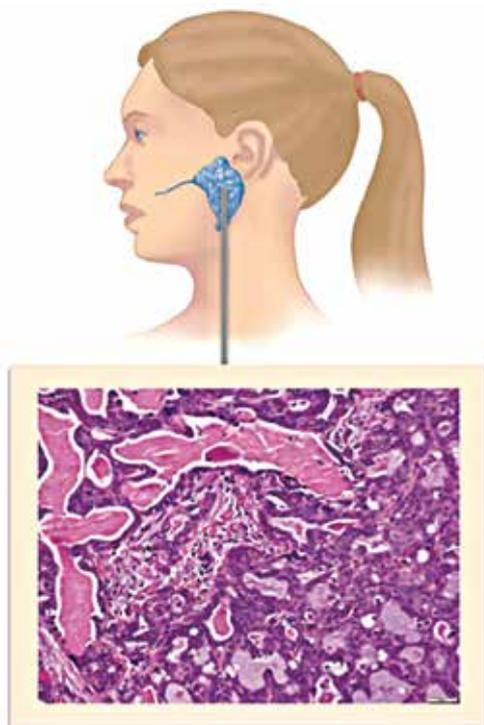
#### **Пример проведения таргетной терапии у пациентки с MASC-карциномой слюнных желез и слиянием *ETV6-NTRK3***

В 2016 г. А. Drilon и соавт. опубликовали клинический случай успешного применения таргетной терапии энтректинибом у пациентки с MASC-карциномой слюнных желез и слиянием *ETV6-NTRK3* [25]. Мы приводим этот случай в сокращении.

*Пациентка 34 лет в январе 2006 г. перенесла паротидэктомию по поводу опухоли левой околоушной слюнной железы. По данным гистологического исследования идентифицирован ацинозноклеточный рак; при микроскопии в краях резекции выявлены опухолевые клетки; процесс соответствовал III стадии (pT3N0M0) (рис. 2).*

*В послеоперационном периоде была проведена лучевая терапия с модуляцией интенсивности (облучение удаленной околоушной слюнной железы и шеи слева).*

*Через 5 лет, в августе 2011 г. у пациентки было гистологически подтверждено прогрессирование опухоли: выявлены метастазы в легких, плевре, средостении и грудной стенке. Несмотря на распространенность метастатического процесса, пациентка вела активный образ жизни, какие-либо симптомы заболевания отсутствовали. С увеличением размеров метастазов в правой плевральной полости появилась боль в правой половине груди, в связи с чем были проведены 2 паллиативных резекции и 3 курса цитотоксической химиотерапии различных линий с винорелбином, цисплатином, паклитакселом и доксорубицином. В феврале 2013 г. выполнено паллиативное хирургическое лечение в объеме удаления опухоли нижней доли правого легкого с паразофагеальным распространением. При послеоперационном гистологическом исследовании установлено, что метастатическая опухоль по строению схожа с первичной опухолью*



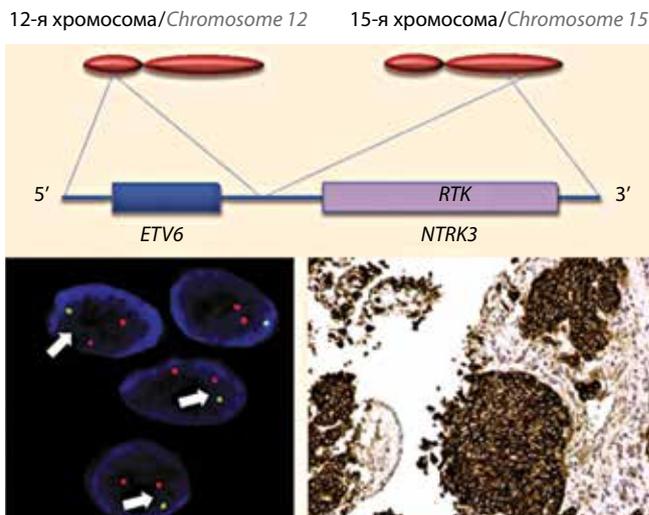
**Рис. 2.** Гистологическое строение опухоли, расцененное как ацинозно-клеточный рак (адаптировано из [25] с разрешения авторов)

**Fig. 2.** Histological examination. A diagnosis of acinic cell carcinoma was made (adapted from [25] with permission of the authors)

(ацинозноклеточный рак). Выполнено молекулярно-генетическое исследование опухоли с использованием NGS, выявлена перестройка *ETV6-NTRK3*  $t(12;15)(p13.2;q25.3)$ . Дополнительно проведены FISH и иммуногистохимическое исследование с *TrkC*-специфическими антителами; также обнаружены изменения в *NTRK3* и повышенная продукция *TrkC*. Таким образом, с учетом наличия специфической перестройки *ETV6-NTRK3* диагноз был изменен на MASC-карциному слюнной железы (рис. 3).

В связи с наличием слияния *ETV6-NTRK3* пациентке был назначен мультитаргетный ИТК кризотиниб с анти-*TrkC*-активностью (*in vitro*). После начала терапии кризотинибом у пациентки уменьшилась интенсивность плевральных болей. При проведении компьютерной томографии (КТ) через 3 и 10 нед лечения подтверждена стабилизация процесса (уменьшение объема опухоли на 2 и 19 % соответственно). После 18 нед лечения по данным КТ выявлено прогрессирование, клинически сопровождавшееся появлением опухоль-ассоциированных болей в грудной клетке и острой остеоартропатии с болями в суставах верхних и нижних конечностей. Терапия нестероидными противовоспалительными препаратами имела незначительный положительный эффект. Ввиду развития побочных эффектов на фоне прогрессирования решено было прекратить прием кризотиниба.

Пациентку включили в I фазу клинического исследования эффективности энтректиниба. После 4 нед при-



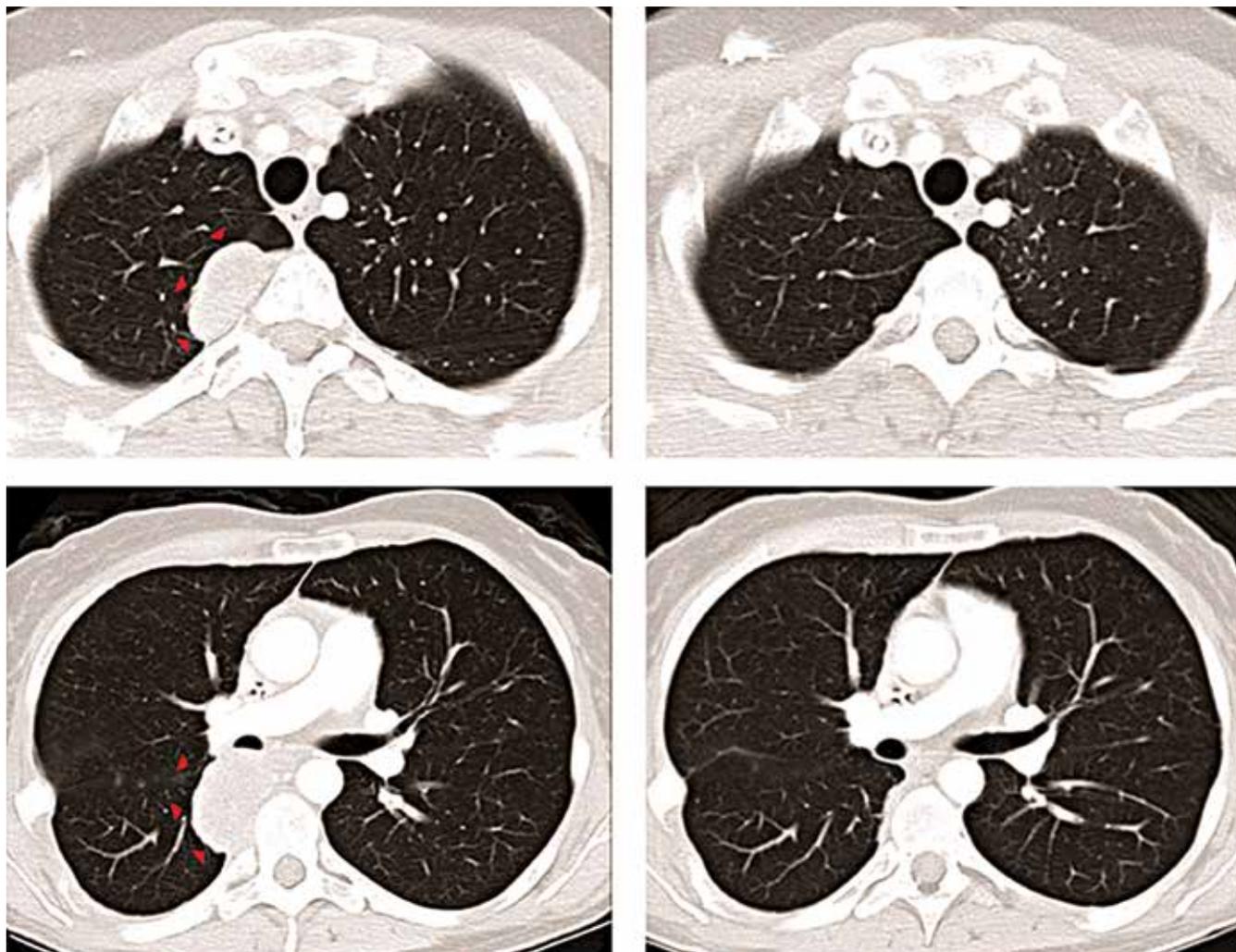
**Рис. 3.** Определение слияния *ETV6-NTRK3* методом секвенирования нового поколения. Слева флуоресцентная гибридизация *in situ*, справа иммуногистохимическое исследование с антителами к *TrkC*. Верифицирована MASC-карцинома (адаптировано из [25] с разрешения авторов)

**Fig. 3.** The *ETV6-NTRK3* fusion detected via next-generation sequencing is depicted. On the left, fluorescence *in situ* hybridization is shown. On the right, immunohistochemistry with *TrkC* staining. The patient's diagnosis was reclassified as mammary analogue secretory carcinoma (adapted from [25] with permission of the authors)

ема энтректиниба уменьшилась выраженность отека и боли в суставах, к 8-й неделе лечения остеоартропатия регрессировала полностью. Через 9 нед приема препарата при КТ выявлен выраженный частичный ответ на терапию с уменьшением плевральных метастатических очагов, через 13 и 21 нед наблюдался регресс опухоли с сокращением объема метастатических очагов на 89 % (рис. 4).

Через 7 мес терапии констатировано бессимптомное прогрессирование солитарного очага в нижней доле правого легкого. По критериям RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumours, критерии оценки ответа солидных опухолей) состояние пациентки расценивалось как стабилизация всех остальных метастатических очагов с отсутствием опухоль-специфических симптомов; решено было продолжить прием энтректиниба в увеличенной дозе. На КТ-изображениях через 8 и 9 мес лечения отмечен рост выявленного ранее солитарного очага со стабилизацией размеров остальных метастазов. С учетом хорошей переносимости терапия энтректинибом продолжена. После 10 мес терапии при обследовании выявлено прогрессирование — увеличение как очага в правом легком, так и легочных лимфатических узлов, что стало причиной отмены препарата.

Ввиду быстрого развития резистентности к энтректинибу А. Drilon и соавт. сравнили результаты NGS биоптатов из 3 различных метастатических очагов для выявления новых мутаций, которые могли привести к развитию резистентности опухоли к терапии на разных этапах лечения (рис. 5).



**Рис. 4.** Компьютерная томография. Частичный ответ на терапию энтректинибом у пациентки с MASC-карциномой со слиянием генов *ETV6-NTRK3*: слева – до начала приема энтректиниба, справа – через 9 нед приема энтректиниба. Уменьшение плевральных метастазов (стрелки) (адаптировано из [25] с разрешения авторов)

**Fig. 4.** A partial response is achieved with entrectinib therapy in an *ETV6-NTRK3*-rearranged mammary analogue secretory carcinoma. Computed tomography imaging of the patient before entrectinib therapy (on the left) and at 9 weeks (on the right). An interval decrease and resolution of pleural-based metastases (arrows) (adapted from [25] with permission of the authors)

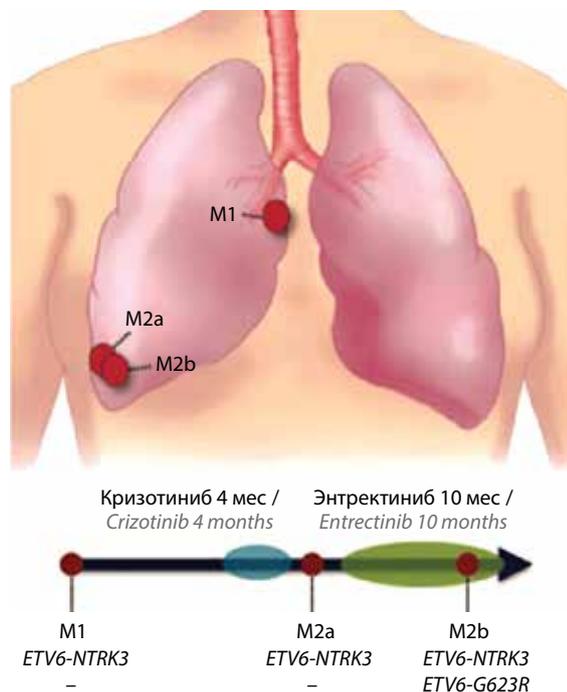
Слияние *ETV6-NTRK3* выявлено во всех 3 образцах материала, но в образце опухоли M2b обнаружено появление также новой мутации в гене *NTRK3* в экзоне 16 G623R (с. 1867G>A), что коррелировало с развитием резистентности к энтректинибу. При пересмотре гистологических препаратов не выявлено других специфических изменений, которые могли бы объяснить развитие резистентности к препарату. В образцах первичной опухоли (удаленной в 2006 г.) число митозов составляло 2/10 без участков некроза. В биоптатах метастатических очагов M1, M2a и M2b имелись участки дедифференцировки с более высоким потенциалом злокачественности и числом митозов 6/10, а также обширные участки некроза.

В результате А. Drilon и соавт. показали, что мутация *NTRK3* G623R приводит к снижению чувствительности к энтректинибу. Выявлено пространственное изменение

структуры мутированного гена рецептора *TrkC*, которое функционально препятствует связыванию энтректиниба с киназным доменом рецептора [25] (рис. 6).

### Заключение

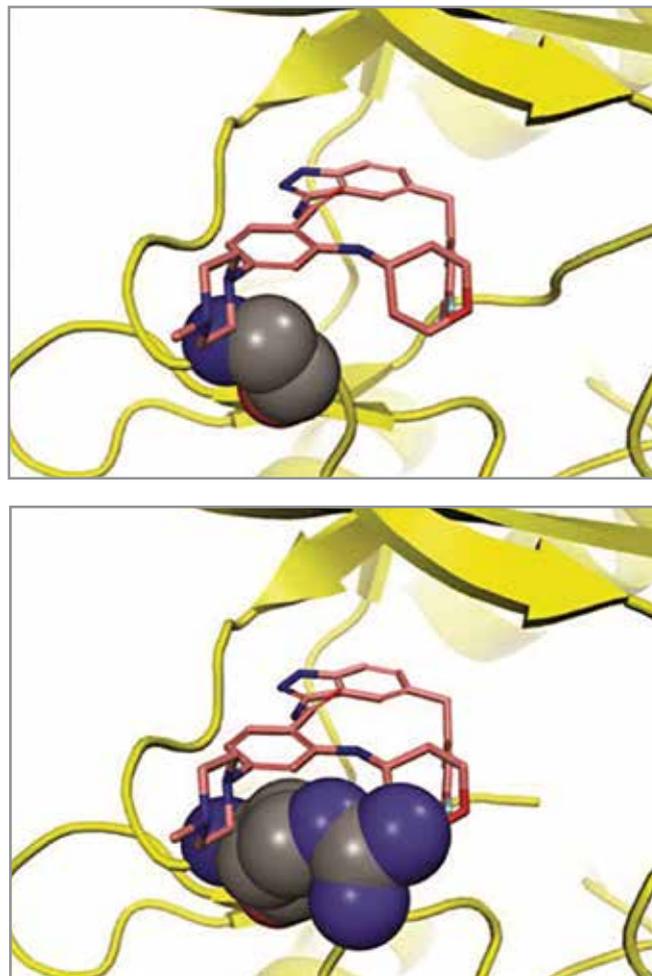
В данной статье освещаются клинические, гистологические и молекулярно-генетические особенности недавно открытых MASC-карцином, основным отличием которых является наличие слияния генов *ETV6-NTRK3*. Подчеркивается особая роль молекулярно-генетических методов в выявлении мутаций, постановке диагноза и определении тактики лечения, что крайне важно для пациентов с орфанными опухолями, эффективные алгоритмы лечения которых отсутствуют [26]. NGS позволяет обнаружить не только ожидаемые мутации, но и различные виды генетических



**Рис. 5.** Схема расположения опухолевых очагов, из которых был взят материал для секвенирования нового поколения (вверху) и выявленные в результате этого исследования мутации (*NTRK3 G623R*) в трансформированном гене *ETV6-NTRK3* на фоне терапии, обусловившие лекарственную резистентность (внизу). *M1* – параэзофагельный участок опухоли нижней доли правого легкого (биопсия до приема кризотиниба); *M2a* – субплевральный очаг в нижней доле правого легкого (до начала приема энтректиниба); *M2b* – субплевральный очаг в нижней доле правого легкого, прилегающий к очагу *M2a* и увеличившийся после продолжительного приема энтректиниба (адаптировано из [25] с разрешения авторов)

**Fig. 5.** Areas of tumor acquisition via serial biopsies are depicted: before crizotinib (*M1*, paraesophageal right lower lobe mass), after progression on crizotinib and before entrectinib (*M2a*, pleural-based right lower lobe mass), and after progression on entrectinib (*M2b*, pleural-based right lower lobe mass immediately adjacent to *M2a*) (at the top) and the development of clinical entrectinib resistance is mediated by the appearance of a novel *NTRK3 G623R* mutation (at the bottom) (adapted from [25] with permission of the authors)

перестроек в широком диапазоне генов на любом этапе лечения. Предполагаем, что, если подвергнуть ретроспективному анализу гистологические образцы других опухолей слюнных желез, в некоторых случаях ацинозноклеточного рака, возможно, будет поставлен иной диагноз. По данным J.A. Bishop, с появлением молекулярно-генетического тестирования в 79 % случаев ацинозноклеточных карцином слюнных желез различной локализации с перестройками *ETV6-NTRK3* диагноз был пересмотрен и изменен на MASC-карциному [27]. Пациентам с опухолями слюнных желез, в особенности при распространенных и метастатических формах заболевания, можно настоятельно рекомендовать проведение тестирования на предмет выявления слияний *ETV6-NTRK3*, так как это позволит не только правильно поставить диагноз, но и подобрать эффективную терапию современными ИТК.



**Рис. 6.** Связывание энтректиниба как с диким типом *TrkC* (вверху), так и с мутантным *TrkC* (*NTRK3 G623R*) (внизу). Мутация *G623R* нарушает пространственную структуру рецептора *TrkC* в участке связывания с энтректинибом (адаптировано из [25] с разрешения авторов)

**Fig. 6.** The binding of entrectinib to both wild-type *TrkC* (at the top) and *NTRK3 G623R* mutant *TrkC* (at the bottom). The *G623R* mutation disrupts the spatial structure of the *TrkC* receptor that decreases the binding of entrectinib (adapted from [25] with permission of the authors)

На конференции Японского общества специалистов по опухолям головы и шеи 5 июня 2020 г. были представлены результаты применения энтректиниба у пациентов с MASC-карциномами ( $n = 7$ ). Частота объективного ответа, по оценке ослепленного независимого комитета, составила 85,7 % (95 % доверительный интервал 42,1–99,6 %), медиана длительности ответа не достигнута (5,7 мес – НД), медиана выживаемости без прогрессирования не достигнута (6,4 мес – НД), медиана общей выживаемости не достигнута (НД – НД). Терапия энтректинибом позволила получить выраженный, клинически значимый и стойкий ответ у пациентов с MASC-карциномами, что еще раз подчеркивает целесообразность проведения у них молекулярно-генетического тестирования для выбора таргетной терапии [28].

Но несмотря на эффективность ИТК и умеренную длительность ответа на терапию, со временем возможно возникновение мутаций и вызванной ими резистентности к этим препаратам, а также дальнейшее прогрессирование опухолевого процесса, как это произошло в вышеописанном клиническом случае. Для преодоления резистентности в настоящее время проводятся I–II фазы клинических исследований ИТК

2-го поколения, таких как селитректиниб (selitrectinib, Loxo-195) и репотректиниб (gepotrectinib, TPX-0005 в исследовании TRIDENT-1). Несомненно, требуется дальнейшее изучение молекулярно-генетических особенностей опухолей и возможностей таргетной терапии ИТК как в монорежиме, так и в комбинациях с целью индивидуализации подхода к каждому пациенту и достижения наилучшего эффекта.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Skálová A., Vanecek T., Sima R. et al. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands, containing the *ETV6-NTRK3* fusion gene: a hitherto undescribed salivary gland tumor entity. *Am J Surg Pathol* 2010;34(5):599–608. DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181d9efcc.
- Ito Y., Ishibashi K., Masaki A. et al. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands: a clinicopathologic and molecular study including 2 cases harboring *ETV6-X* fusion. *Am J Surg Pathol* 2015;39(5):602–10. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000392.
- Escalante D.A., Wang H., Fundakowski C.E. Fusion proteins in head and neck neoplasms: clinical implications, genetics, and future directions for targeting. *Cancer Biol Ther* 2016;17(10):995–1002. DOI: 10.1080/15384047.2016.1219823.
- Skálová A., Vanecek T., Majewska H. et al. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands with high-grade transformation: report of 3 cases with the *ETV6-NTRK3* gene fusion and analysis of TP53,  $\beta$ -catenin, EGFR, and CCND1 genes. *Am J Surg Pathol* 2014;38(1):23–33. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000088.
- Cai Y., Cai F., Qiao H., Wang Z. The significance of the morphological and immunological characteristics in the diagnosis of parotid mammary analogue secretory carcinoma: five case reports and a review of the literature. *Int J Clin Exp Pathol* 2019;12(6):2233–40.
- Skálová A., Vanecek T., Martinek P. et al. Molecular profiling of mammary analog secretory carcinoma revealed a subset of tumors harboring a novel *ETV6-RET* translocation: report of 10 cases. *Am J Surg Pathol* 2018;42(2):234–46. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000972.
- Skálová A., Vanecek T., Simpson R.H. et al. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands: molecular analysis of 25 *ETV6* gene rearranged tumors with lack of detection of classical *ETV6-NTRK3* fusion transcript by standard RT-PCR: report of 4 cases harboring *ETV6-X* gene fusion. *Am J Surg Pathol* 2016;40(1):3–13. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000537.
- Stransky N., Cerami E., Schalm S. et al. The landscape of kinase fusions in cancer. *Nat Commun* 2014;5:4846. DOI: 10.1038/ncomms5846.
- Amatu A., Sartore-Bianchi A., Bencardino K. et al. Tropomyosin receptor kinase (TRK) biology and the role of *NTRK* gene fusions in cancer. *Ann Oncol* 2019;30(Suppl 8):viii5–15. DOI: 10.1093/annonc/mdz383.
- Amatu A., Sartore-Bianchi A., Siena S. *NTRK* gene fusions as novel targets of cancer therapy across multiple tumour types. *ESMO Open* 2016;1(2):e000023. DOI: 10.1136/esmoopen-2015-000023.
- Vaishnavi A., Le A.T., Doebele R.C. TRKING down an old oncogene in a new era of targeted therapy. *Cancer Discov* 2015;5(1):25–34.
- Gatalica Z., Xiu J., Swensen J., Vranic S. Molecular characterization of cancers with *NTRK* gene fusions. *Mod Pathol* 2019;32(1):147–53. DOI: 10.1038/s41379-018-0118-3.
- Solomon J.P., Linkov I., Rosado A. et al. *NTRK* fusion detection across multiple assays and 33,997 cases: diagnostic implications and pitfalls. *Mod Pathol* 2020;33(1):38–46. DOI: 10.1038/s41379-019-0324-7.
- Marchiò C., Scaltriti M., Ladanyi M. et al. ESMO recommendations on the standard methods to detect *NTRK* fusions in daily practice and clinical research. *Ann Oncol* 2019;30(9):1417–27. DOI: 10.1093/annonc/mdz204.
- Connor A., Perez-Ordoñez B., Shago M. et al. Mammary analog secretory carcinoma of salivary gland origin with the *ETV6* gene rearrangement by FISH: expanded morphologic and immunohistochemical spectrum of a recently described entity. *Am J Surg Pathol* 2012;36(1):27–34. DOI: 10.1097/PAS.0b013e318231542a.
- Suehara Y., Arcila M., Wang L. et al. Identification of *KIF5B-RET* and *GOPC-ROS1* fusions in lung adenocarcinomas through a comprehensive mRNA-based screen for tyrosine kinase fusions. *Clin Cancer Res* 2012;18(24):6599–608. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0838.
- Solomon J.P., Benayed R., Hechtman J.F., Ladanyi M. Identifying patients with *NTRK* fusion cancer. *Ann Oncol* 2019;30(Suppl 8):viii16–22. DOI: 10.1093/annonc/mdz384.
- Drilon A., Laetsch T.W., Kummar S. et al. Efficacy of larotrectinib in TRK fusion – positive cancers in adults and children. *N Engl J Med* 2018;378(8):731–9. DOI: 10.1056/NEJMoA1714448.
- Hyman D.M., Tilburg C.M., Albert C.M. et al. Durability of response with larotrectinib in adult and pediatric patients with Trk fusion cancer. *Ann Oncol* 2019;30:v159–93.
- Ardini E., Menichincheri M., Banfi P. et al. Entrectinib, a pan-Trk, ROS1, and ALK inhibitor with activity in multiple molecularly defined cancer indications. *Mol Cancer Ther* 2016;15(4):628–39. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-15-0758.
- Rolfo C., De Braud F., Doebele R. et al. Efficacy and safety of entrectinib in patients (pts) with *NTRK*-fusion positive (*NTRK-fp*) solid tumors: an updated integrated analysis. *J Clin Oncol* 2020;38 suppl:abstr 3605.
- Fischer H., Ullah M., de la Cruz C.C. et al. Entrectinib, a TRK/ROS1 inhibitor with anti-CNS tumor activity: differentiation from other inhibitors in its class due to weak interaction with P-glycoprotein. *Neuro Oncol* 2020;22(6):819–29. DOI: 10.1093/neuonc/noaa052.
- Doebele R.C., Drilon A., Paz-Ares L. et al. Entrectinib in patients with advanced or metastatic *NTRK* fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1–2 trials. *Lancet Oncol* 2019;21(2):271–82. DOI: 10.1016/S1470-2045(19)30691-6.
- Konicek B.W., Capen A.R., Credille K.M. et al. Merestinib (LY2801653) inhibits neurotrophic receptor kinase (NTRK) and suppresses growth of *NTRK* fusion bearing tumors. *Oncotarget* 2018;9(17):13796–806. DOI: 10.18632/oncotarget.24488.
- Drilon A., Li G., Dogan S. et al. What hides behind the MASC: clinical response and acquired resistance to entrectinib after

- ETV6-NTRK3* identification in a mammary analogue secretory carcinoma (MASC). *Ann Oncol* 2016;27(5):920–26. DOI: 10.1093/annonc/mdw042.
26. Drilon A., Wang L., Arcila M.E. et al. Broad, hybrid capture-based next-generation sequencing identifies actionable genomic alterations in lung adenocarcinomas otherwise negative for such alterations by other genomic testing approaches. *Clin Cancer Res* 2015;21(16):3631–9. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2683.
27. Bishop J.A. Unmasking MASC: bringing to light the unique morphologic, immunohistochemical and genetic features of the newly recognized mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands. *Head Neck Pathol* 2013;7(1):35–9. DOI: 10.1007/s12105-013-0429-0.
28. Takeda M., Hierro C., Krauss J. et al. Entrectinib in *NTRK* fusion-positive mammary analogue secretory carcinoma (MASC): a phase 1/2 integrated analysis. In: Japan Society for Head and Neck Cancer 44<sup>th</sup> Annual Meeting 2020.

**Благодарность.** Авторы выражают благодарность Alexander Drilon из Memorial Sloan Kettering Cancer за разрешение использовать рисунки, опубликованные в его статье.

**Acknowledgements.** We acknowledge Alexander Drilon of Memorial Sloan Kettering Cancer Center for permission to use materials and pictures from his article.

#### Вклад авторов

А.В. Игнатова: обзор публикаций по теме статьи, анализ информации, написание текста статьи;

А.М. Мудунов: обзор публикаций по теме статьи, научное редактирование статьи;

С.О. Подвязников, Ю.В. Алымов: научное редактирование статьи.

#### Authors' contributions

A.V. Ignatova: reviewing of publications of the article's theme, data analysis, article writing;

A.M. Mudunov: performing surgery, scientific editing of the article;

S.O. Podvyaznikov, Yu.V. Alymov: scientific editing of the article.

#### ORCID авторов / ORCID of authors

А.В. Игнатова / A.V. Ignatova: <http://orcid.org/0000-0002-6796-0968>

А.М. Мудунов / A.M. Mudunov: <http://orcid.org/0000-0002-0918-3857>

С.О. Подвязников / S.O. Podvyaznikov: <https://orcid.org/0000-0003-1341-0765>

Ю.В. Алымов / Yu.V. Alymov: <https://orcid.org/0000-0002-6851-9867>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Работа выполнена без спонсорской поддержки.

**Financing.** The work was performed without external funding.

Статья поступила: 22.03.2020. Принята к публикации: 09.06.2020.

Article submitted: 22.03.2020. Accepted for publication: 09.06.2020.